

Efeito de extratos aquosos de plantas da família Myrtaceae em fibroblastos de pulmão (MRC-5) e células de adenocarcinoma de pulmão (A549)

VETTORAZZI, G. P. ^{1*}; IMMICH, S. M. ¹; STOLL, S.N. ¹; GOETTERT, M. I. ^{2*}

*¹Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini 171 - Bairro Universitário - Lajeado/RS - Brasil, CEP: 95914-014 *Autor para correspondência: gabriela.vettorazzi@hotmail.com*

*²Laboratório de Cultura de Células, Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, Centro Universitário Rua Avelino Tallini 171 - Bairro Universitário - Lajeado/RS - Brasil, CEP: 95914-014 *Autor para correspondência: marcia.goetttert@univates.br Tel: +55 51 3714.7000 - (Ramal: 5445)*

RESUMO: Os radicais livres são moléculas instáveis geradas por um processo contínuo e fisiológico, os quais podem causar diversos danos à saúde do homem, sendo ainda, associados com diversas patologias como o câncer e a aterosclerose. As enzimas antioxidantes endógenas SOD, CAT e GPX são responsáveis pelo efeito protetor das células, porém, muitas vezes não são suficientes para inibir completamente o efeito dos radicais livres. Esse é um dos principais motivos pelos quais há uma busca por novas fontes de antioxidantes, tendo neste contexto os produtos naturais que contém significativa importância. Existem várias famílias de plantas que vêm sendo estudadas devido as suas inúmeras propriedades terapêuticas destacando-se a família Myrtaceae, visto que sua composição é rica em compostos fenólicos, que são uma classe importante com propriedades antioxidantes. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos extratos aquosos de três espécies pertencentes à família Myrtaceae sobre a viabilidade celular, bem como o efeito citoprotetor em linhagens celulares de fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) e adenocarcinoma de pulmão humano (A549). Os resultados encontrados demonstram não haver especificidade em relação aos efeitos encontrados nas duas linhagens celulares, isso se deve pelas diferentes concentrações e presença de compostos, bem como as vias de ação dos fitoconstituintes. O potencial antioxidante dos extratos não interferiu na viabilidade celular, não podendo sugerir um mecanismo ou atividade citoprotetora. Os extratos apresentaram atividade muito semelhante nas células estudadas, destacando o potencial inibitório sobre a proliferação das células tumorais pelo extrato EXCT2.

Palavras-chave: Radicais livres, antioxidantes, Myrtaceae, produtos naturais, citoprotetor.

ABSTRACT: Cytoprotective effect of aqueous extracts of Myrtaceae family in MRC-5 human lung fibroblast and A549 human lung adenocarcinoma cell lines. Free radicals are unstable molecules are generated by a continuous and physiological process. They are also related to the development of diseases, like cancer and atherosclerosis. Antioxidant enzymes like SOD, CAT and GPX are responsible for protecting cells from damage of free radicals, but sometimes their action isn't enough to inhibit damage. Given this relationship, its needed exogenous antioxidants, such as natural products, which have major significance. There are many plant families which have been studied because of

their therapeutic proprieties, such as Myrtaceae family, known for having great number of phenolic compounds, which already are recognized by being a great source of antioxidants. The present study aimed to evaluate the effects of aqueous extracts of three species belonging to Myrtaceae family, as well as their cytoprotective effect on MRC-5 human lung fibroblast and A549 human lung adenocarcinoma cell lines. The results show that there is no specificity regarding the effects found in the two cell lines, this is due to different concentrations and the presence of compounds, as well as the pathway of the phytoconstituents. The antioxidant potencial of the extracts didn't interfere in cell viability and could not be suggested as a mechanism or a citoprotective activity. The extracts presented very similiar activities in the studied cell lines, highlighting the inhibitory potential on the proliferation of tumor cells by the extract EXCT2.

Key words: Free radicals, antioxidant, Myrtaceae, natural products, cytoprotetion

INTRODUÇÃO

Muitas patologias estão relacionadas com o estresse oxidativo, destacando-se as cardiovasculares e as neurodegenerativas, além de alguns tipos de câncer, doenças pulmonares, autoimunes, vasculares e o envelhecimento celular precoce (Pérez-Matute et al., 2009). Os antioxidantes atuam como um sistema de defesa, com uma função de extrema importância ao inibir ou reduzir os danos causados pelos radicais livres. Os principais sistemas enzimáticos endógenos incluem Superóxido Dismutase (SOD), Glutadiona Peroxidase (GPx) e a Catalase (CAT), que atuam através de mecanismos de prevenções que inibem ou controlam a formação de radicais a nível celular. Outra importante fonte de antioxidantes dá-se através da alimentação (sucos, chás), suplementação dietética (vitaminas) e fitoconstituintes presentes em produtos naturais (Bianchi & Antunes, 1999).

Desde os primórdios, o homem se utiliza da medicina alternativa em busca de cura e/ou tratamento para diversas enfermidades. Atividade que passou a ser mais difundida a partir da segunda metade do século XX. Neste cenário, as

plantas se destacam na utilização para fins terapêuticos ou até mesmo como profilaxia. Com o advento dos estudos dos radicais livres e seus efeitos danosos para o organismo, é crescente o interesse por produtos com propriedades antioxidantes. (Giordani et al., 2015).

Nesta busca, os produtos naturais ganham significativa importância, principalmente àqueles que possuem fonte de compostos antioxidantes. Os antioxidantes contribuem para a ação anti-inflamatória, antimicrobiana, hipolipidêmica, anticancerígena e proteção celular. Estes efeitos protegem as células de danos gerados pelos radicais livres, o que atribui aos antioxidantes uma importante atividade biológica (Haida et al., 2015).

A família Myrtaceae está amplamente distribuída nas regiões de clima tropical e subtropical, sendo uma das famílias mais importantes da flora brasileira em função de várias espécies comestíveis e pelo seu uso medicinal. (Moraes et al., 2014). Apresentando mais de mil espécies no Brasil, está é uma das dificuldades para o estudo desta família, pois ela é muito ampla. Os gêneros mais importantes no Brasil são: *Psidium*,

Myrciaria, *Martierea*, *Campomanesia*, *Syzygium* *Eugenia* (Bianchetti, 2014).

Algumas plantas da família Myrtaceae apresentam amplo emprego na medicina popular, e seu potencial antioxidante é reportado na literatura devido aos seus metabólitos secundários, sendo assim, isso desperta o interesse e potencial para o estudo de suas atividades biológicas (Junior et al., 2014).

O estudo realizado por Plaza e colaboradores (2006) sugere que o *Syzygium cumini* Skeels, popularmente conhecida como jambolão, apresenta potencial emprego medicinal, como na terapêutica da diabetes. Geralmente a parte utilizada desta família são as folhas, que são largamente utilizadas na forma de chás, com ação anti-inflamatória, cicatrizantes, antissépticas e, especialmente, antidiarréicas (Donatini et al., 2009).

Diversos estudos referenciam plantas pertencentes a esta família como importante fonte de antioxidantes, como por exemplo, a *Psidium guajava* (Goiaba) e *Eugenia uniflora* (pitanga). As propriedades farmacológicas destas espécies (como anti-inflamatória e antimicrobiana), são atribuídas a seu potencial antioxidante (Abe et al., 2014; Simonetti et al., 2016).

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos extratos aquosos de três espécies de plantas pertencentes à família Myrtaceae sobre a viabilidade celular, bem como o efeito citoprotetor atribuído ao potencial antioxidante, em linhagens celulares de fibroblastos de pulmão humano (MRC-5) e adenocarcinoma de pulmão humano (A549).

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

As folhas de três plantas diferentes da família Myrtaceae foram coletadas no município de Lajeado e identificadas pela Prof^a. Dra. Elisete Maria de Freitas. Uma exsicata de cada espécime coletada está depositada no herbário do Centro Universitário UNIVATES, sob o registro HVAT 1066, HVAT 4469 e HVAT XXX, e armazenadas no Museu de Ciências Naturais do Centro Universitário UNIVATES.

Preparação dos extratos aquosos

Os extratos aquosos foram preparados pelo método de decocção, que consiste na seleção, lavagem e secagem das folhas, e em seguida o material vegetal foi depositado em um recipiente de vidro contendo água deionizada previamente fervida, na proporção de 1:10 m/v, respectivamente, por um período de 2 horas. Posteriormente, a solução extrativa foi filtrada à vácuo, e em seguida, realizada a remoção do solvente com o auxílio de um evaporador rotatório a 55 rpm, com banho de aquecimento a 40 °C. O extrato aquoso foi armazenado em um frasco âmbar, identificado e mantido sob refrigeração a, aproximadamente, 4 °C até o momento dos testes. Os extratos utilizados neste estudo foram denominados como EXTMP1, EXTCT2, EXTCT3.

Linhagens celulares

Para os ensaios foram utilizados fibroblastos de pulmão humano da linhagem MRC-5 doados pelo Professor Dr. Eduardo Cremonese Filippi Chiela do PPG Gastroenterologia e Hepatologia FAMED/UFRGS e células de adenocarcinoma pulmonar A549 foram doadas pelo Fábio Klamt do PPG Bioquímica e Ciências Médicas UFRGS.

As células MRC-5 e A549 foram mantidas em meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) e Roswell Park Memorial Institute (RPMI), respectivamente, suplementadas com 10 % de soro fetal bovino (SFB), 0,006 % penicilina e 0,01 % de sulfato de estreptomicina a 37 °C em atmosfera de 5 % CO₂ e 90 % umidade. Para os dois ensaios as células MRC-5 e A549 foram plaqueadas em densidade de 2,5x10³ células/poço em placas de 96 poços contendo 200 µL de meio de cultura suplementado com 10 % de SFB. As células plaqueadas foram incubadas durante 24 horas (37°C, 5% CO₂) para adesão celular.

Concentração de peróxido de hidrogênio

O peróxido de hidrogênio (H₂O₂) vem sendo utilizado largamente em estudos para a indução de dano nas células. Por ser um ERO (espécie reativa de oxigênio) ele possui uma atividade semelhante aos radicais livres, causando assim dano as estruturas celulares. A concentração predeterminada de H₂O₂ utilizada para as duas linhagem celulares foi 500 µM.

Viabilidade celular

A avaliação da viabilidade celular *in vitro* foi realizada através do método colorimétrico de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), descrito por Mosmann (1983), com algumas modificações. O método de MTT baseia-se na redução de sais tetrazólicos em cristais de formazan por desidrogenases mitocondriais metabolicamente ativas (células viáveis).

Após o plaqueamento e período de adesão celular foi realizado o tratamento com os diferentes extratos aquosos EXTMP1, EXTCT2 e EXTCG3 na

concentração de 200 µg/mL e após foram incubadas por mais 48 horas.

Posteriormente, para a avaliação do efeito dos extratos sobre as células quando submetidas a agentes oxidantes, o H₂O₂ a uma concentração de 500 µM, foi adicionado e incubado por mais 3 horas.

Após o período de incubação, os tratamentos foram removidos e foram adicionados 200 µL de solução 10% de MTT (0,5 mg/mL) em cada poço. A leitura da absorbância (570 nm) realizou-se após 3 horas através do leitor de microplacas SpectraMax i3 e o percentual de viabilidade celular determinada conforme cálculo abaixo:

$$\% \text{viabilidade} = \frac{\text{AbsAmostra}}{\text{AbsMédiaControle}} \times 100$$

Análises Estatísticas

Os dados obtidos pela pesquisa foram analisados pelo método estatístico Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas com o software GraphPad Prism 5 sendo adotado o nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do extrato nas linhagens celulares

O potencial biológico devido a diferentes atividades já relatadas e atribuídas as espécies pertencentes à família Myrtaceae, e ainda, o potencial antioxidante previamente determinado (dados não publicados) com significativo potencial redutor do agente oxidante DPPH direcionaram as análises realizadas neste estudo. Os extratos EXTMP1, ETXCT2, EXTCG3 apresentaram significativo potencial

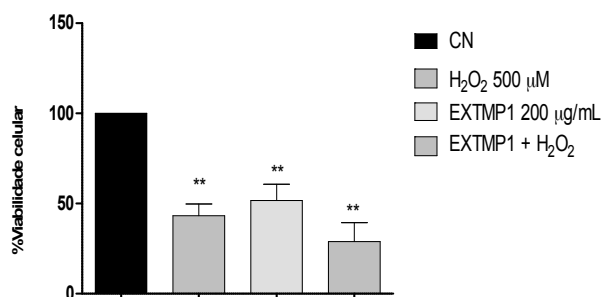
antioxidante com IC₅₀% 13,45 ug, 23,28 ug, e 13,11 ug respectivamente.

Até o momento não foi encontrado nenhum estudo sobre a avaliação do potencial antioxidante e o efeito dos extratos em linhagem celular humana de adenocarcinoma de pulmão (A549) linhagem celular humana de fibroblasto de pulmão fetal (MRC-5) utilizando os extratos aquosos das espécies em análise, sendo estes resultados descritos pela primeira vez neste artigo.

Para ambas as linhagens celulares, a concentração de 500 µM de H₂O₂ foi determinada como ideal para a avaliação do efeito dos extratos sobre a viabilidade celular, visto que esta é mantida em aproximadamente 50% quando as células são expostas ao H₂O₂ por 3 horas (Craciunescu et al, 2012).

No gráfico 1 podemos observar uma significativa diminuição da viabilidade celular quando as células MRC-5 foram tratadas com o extrato EXTMP1 e submetidas ao tratamento com adição do H₂O₂. O potencial antioxidante do extrato não interferiu na recuperação ou manutenção da viabilidade celular.

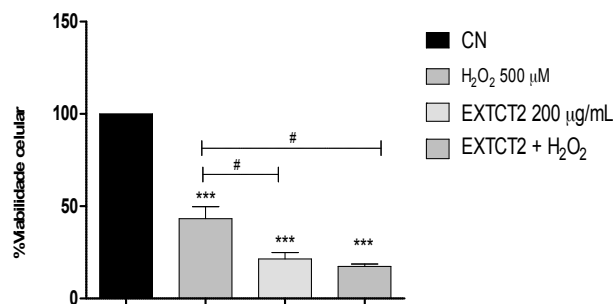
GRÁFICO 1: Efeito do extrato EXTMP1 em células MRC-5



O gráfico demonstra o comportamento do extrato aquoso EXTMP1 frente à linhagem celular MRC-5. Dados apresentados com média ± EMP (n=2); ** p < 0,01 comparado com controle.

Já, o extrato EXTCT2, conforme o gráfico 2, apresentou um efeito inibitório sobre a viabilidade celular, maior que o apresentado pelo H₂O₂, reduzindo a viabilidade celular em ± 25 %.

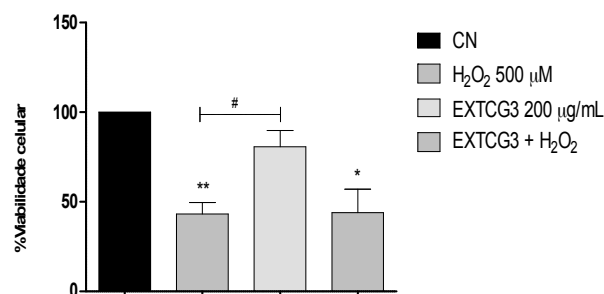
GRÁFICO 2: Efeito do extrato EXTCT2 em células MRC-5



O gráfico demonstra o comportamento do extrato aquoso EXTCT2 frente à linhagem celular MRC-5. Dados apresentados com média ± EMP (n=2); *** p < 0,01 comparado com controle; # p < 0,05 comparado com H₂O₂ 500 µM.

Dos extratos avaliados, o extrato EXTCT3 apresentou menor citotoxicidade para as células MRC-5, quando comparado com os extratos EXTMP1 e EXTCT2. Conforme o gráfico 3 é possível observar que o efeito sobre a viabilidade celular do H₂O₂ não é revertido quando as células foram pré-tratadas com o extrato.

GRÁFICO 3: Efeito do extrato EXTCT3 em células MRC-5

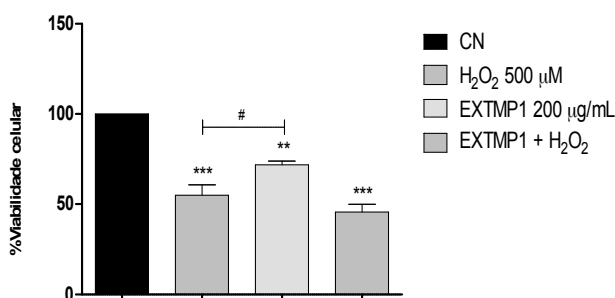


O gráfico demonstra o comportamento do extrato aquoso EXTCT3 frente à linhagem celular MRC-5. Dados apresentado com média ± EMP (n=2); * p < 0,05; ** p < 0,01; comparado com controle; # p < 0,05 comparado com H₂O₂ 500 µM.

O efeito do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na linhagem A549 manteve a viabilidade celular em aproximadamente $\pm 60\%$, o que pode ser relacionado com uma maior resistência ao dano celular quando comparado as células saudáveis (MRC-5) que manteve a viabilidade em aproximadamente $\pm 60\%$.

O EXTMP1 apresentou uma diminuição significativa da viabilidade celular cerca de $\pm 30\%$ quando comparado ao CN, porém este efeito foi menor em relação as células MRC-5. Ainda, como descrito anteriormente, o EXTMP1 não apresentou atividade frente a viabilidade celular quando tratadas posteriormente com o H_2O_2 .

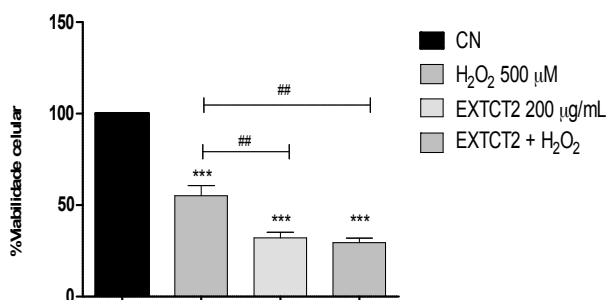
GRÁFICO 4: Efeito do extrato EXTMP1 em células A549



O gráfico demonstra o comportamento do extrato aquoso EXTMP1 frente a linhagem celular A549. Dados apresentados com média \pm EMP ($n=3$), ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparado com controle (CN); # $p < 0.05$ comparado com H_2O_2 500 μM .

O extrato não apresentou atividade seletiva frente as linhagens avaliadas. Neste mesmo sentido, o extrato EXTCT2 apresentou o maior efeito sobre as duas linhagens celulares, como pode ser observado nos gráficos 2 e 5, apenas um comportamento semelhante em ambas as linhagens, porém com maior citotoxicidade foi frente aos fibroblastos de pulmão (MRC-5).

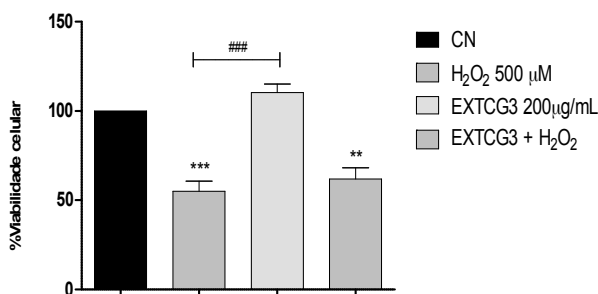
GRÁFICO 5: Efeito do extrato EXTCT 2 em células A549



O gráfico demonstra o comportamento do extrato aquoso EXTCT2 frente à linhagem celular A549. Dados apresentados com média \pm EMP ($n=3$), *** $p < 0.001$ comparado com controle (CN); ## $p < 0.01$ comparado com H_2O_2 500 μM .

Já no gráfico 6 podemos observar que extrato EXTCT3, atua de forma semelhante em ambas as linhagens celulares, mantendo a viabilidade celular em aproximadamente 100% nas células A549. Porém quando adicionado o H_2O_2 este efeito não se mantém.

GRÁFICO 6: efeito do extrato EXTCT3 em células A549



O gráfico demonstra o comportamento do extrato aquoso EXTCT3 frente à linhagem celular A549. Dados apresentados com média \pm EMP ($n=3$), ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ comparado com controle (CN); ### $p < 0.001$ comparado com H_2O_2 500 μM .

Os resultados encontrados demonstram não haver especificidade em relação aos efeitos encontrados para ambos os tipos celulares, considerando que as linhagens celulares se diferenciam entre saudáveis e tumorais de tecido pulmonar. Bem como, o potencial antioxidante dos extratos não

interferiu sobre a viabilidade celular, não podendo se sugerir um mecanismo ou atividade citoprotetor das células pelos extratos. Ainda, neste contexto, podemos observar um comportamento muito similar dos extratos, destacando-se o potencial inibitório sobre a proliferação celular da linhagem tumoral pelo EXTCT2.

Estudos realizados por Lee e colaboradores (2008), mostram que o H_2O_2 induz as células ao estresse oxidativo causando danos a sua estrutura, na concentração de 500 mM por 2 horas. Este estudo foi realizado em células de medula suprarrenal de ratos (PC12) e o extrato utilizado como tratamento com o extrato aquoso da Paeoniaceae promoveu um aumento da viabilidade celular quando comparado ao grupo contendo H_2O_2 .

Um estudo realizado por Ehtesham-Gharaee e colaboradores em 2014, utilizou extratos da raiz da planta *Scutellaria lindbergii* da família Lamiaceae como tratamento em células NIH 3T3. Para a indução de dano celular foi utilizado às concentrações de 25, 50 e 100 μM de H_2O_2 por um período de 2 horas. Os extratos em questão também apresentaram um bom potencial citoprotetor, podendo prevenir as células de danos oxidativos. Os extratos apresentaram citoproteção contra os danos no DNA sendo o $IC_{50\%}$ dos extratos como 48, 138 e 8 μg ml⁻¹.

Pirosski & Emilio conduziram um estudo sobre a ação do antioxidante astaxantina sobre células secretoras de insulina (RINm5f) quando exposta ao estresse oxidativo induzido pelo peróxido de hidrogênio. Neste estudo foram testadas várias concentrações de peróxido de hidrogênio (0,25, 50, 100, 200, 400 e 800 μM) por um período de 2 horas, e mesmo com altas concentrações

não foram evidenciadas morte celular, como o esperado, pois se presume que em altas concentrações o peróxido de hidrogênio causaria mais morte celular. O resultado deste estudo mostrou que apesar da astaxantia apresentar um potencial antioxidante considerável ele não apresentou um potencial citoprotetor para as células e nem citotoxicidade para as células mesmo em altas concentrações. Na verdade este estudo se mostrou inconclusivo devido à dificuldade de padronizar a determinação do estresse oxidativo.

O estudo realizado por Pirosski & Emilio (2016), apresentou resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho, pois o potencial antioxidante não apresentou efeito citoprotetor como o esperado para as células estudadas.

Apesar da atividade antioxidante considerável já determinada para os extratos em análise, não foi possível associar ou identificar um aumento da viabilidade celular como mencionado em outros estudos. A atividade antioxidante pode estar relacionada a compostos fitoquímicos presentes nos extratos, que não estejam apresentem atividade frente à viabilidade celular.

Muitos estudos em diferentes famílias de plantas e com diferentes concentrações de H_2O_2 vêm sendo realizados com o intuito de desenvolver novas alternativas para a cura e/ou tratamento de diversas doenças.

CONCLUSÃO

Os efeitos apresentados pelos extratos aquosos podem estar associados com as diferentes concentrações e presença de compostos, bem como as vias de ação dos fitoconstituintes. Os efeitos apresentado pelo extrato EXTCT2 sobre células tumorais A549 podem ser sem

considerados positivos, pois este consegue inibir o crescimento destas células mais que o próprio peróxido de hidrogênio, que é indutor de dano celular.

Os resultados encontrados neste trabalho são promissores, visto que o extrato aquoso EXCTC2 estudado, sugere que ele possua um efeito antiproliferativo das células tumorais, e assim sugere mais estudos para este extrato.

Cada vez mais se torna mais necessárias pesquisas neste sentido que possam realizar novos estudos e desenvolvimentos de novas drogas antiproliferativa de células tumorais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, Simone Y., et al. Prospecção fitoquímica, teor de flavonoides totais e capacidade antioxidante de campomanesiaxanthocarpamart. ex o. berg (Myrtaceae). **Revista eletrônica de Farmácia**. REF-ISSN1808-0804 Vol. XI (2),01–14, 2014.
- BIANCHI, Maria de L. P., & ANTUNES, Lusânia M. G. Radicais Livres E Os Principais Antioxidantes Da Dieta. **Revista Nutrição**. Campinas, 12(2): 123-130. 1999.
- BRAATZ, Simoní M. Avaliação do efeito citoprotetor do extrato bruto das folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga) e de compostos bioativos isolados em células secretoras de insulina. **Dissertação de mestrado**. Ponta Grossa. 2010.
- CRACIUNESCU, o., et al. Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana* L. and *Artemisia absinthium* L. ethanolic extracts. **Journal Chemistry Central**. 2012.
- DE SOUZA, Márcia D. O. Caracterização química, atividade antioxidante e Antigenotóxica de extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. **Dissertação de mestrado**. Caxias do sul. 2013.
- EHTESHAM-GHARAEI, Melika. et al. Protective effects of *Scutellaria lindbergii* root extract against oxidative-induced cell and DNA damage in mouse fibroblast-like cells. **Drug and Chemical Toxicology**. 2015; 38(3): 293–299.
- GIORDANI, C. et al. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-*Candida* no período de 2005-2013. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. Campinas, v. 17, n. 1, p. 175-185, 2015.
- HAIDA Kimiyo S., et al. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidiumguajava* L.) Fresca e Congelada. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, Vol. 9(1): 1-72, Jan-Mar 2015.
- LEE, S-M.; et al. Protective Effects of *Paeonia lactiflora* Pall on Hydrogen Peroxide-Induced Apoptosis in PC12 Cells. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**. v.72, n.5, p.1272-1277, 2008.
- MORAIS, Larissa M. F., CONCEIÇÃO, Gonçalo M. Da., NASCIMENTO, Janilde de M. Família myrtaceae: análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.1, n.01; p.318. 2014.
- NASCIMENTO, Juliana C., et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**. 92(4): 327-332, 2011.
- PÉREZ-MATUTE, P., ZULET, M. A., & MARTÍNEZ, J. A. Reactivespeciesand diabetes: counteractingoxidative stress to improve health. **Current Opinion in Pharmacology**, 9(6), 771-779. 2009.
- PIROSKI, PAULA S., EMILIO, HENRIETTE R. O. Efeito da

astaxantina sobre células secretoras de Insulina submetidas a estresse oxidativo induzido por Peróxido de hidrogênio: avaliação da viabilidade celular. **Encontro Anual de Iniciação Científica**. Paraná. 2016.

PLAZA, Carenina V et al. Antioxidantes Presentes em Folhas e Frutos de *Eugenia jambolana* Lam. (*Myrtaceae*). **30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. 2006.

SIMONETTI, E. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de

Eugenia anomala e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Campinas, v.18, n.1, p.9-18, 2016.

VALKO, M., et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, 39(1), 44-84. 2007.

